Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.4, Winter 2022, P. 647-660
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۶۰-۶۴۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی نوع ترکیب تنظیم کننده رشد گیاهی و نمک‌های محیط کشت در ریزازدیادی گیاه سینگونیوم (*Syngonium podophyllum* L.)

احمد شریفی[۱]- مریم مرادیان[۲]- نسیم صفری[۳]- آزاده خادم[۴]- سیده مهدیه خرازی[۵]*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۰

چکیده

امروزه استفاده از گیاهان برگ‌زینتی در فضای آپارتمان برای زیباسازی فضا و طراحی فضای داخلی امری رایج است. بنابراین، تعیین بهترین روش تکثیر با هدف تولید تعداد زیاد گیاه در مدت زمان کوتاه، در این گیاهان امری ضروری است. بدین منظور آزمایشی برای ریزافزایی گیاه برگ‌زینتی سینگونیوم طراحی و اجرا گردید. در راستای درصد باززایی ریزنمونه‌های گره با طول یک سانتی‌متر در محیط‌کشت نیمه‌جامد MS حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد گیاهی BA و Kin قرار داده شدند. به منظور بررسی درصد پرآوری ریزنمونه‌ها آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. عامل اول شامل نوع محیط کشت (MS و B_5) و عامل دوم غلظت‌های مختلف آن (۰/۵ و ۱) بود. در آزمایش سوم، به بررسی سازگاری گیاهچه‌ها با استفاده از بسترهای کشت مختلف پرداخته شد. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. با توجه به نتایج آزمایش، مشخص گردید که استفاده از سیتوکینین در محیط کشت پایه MS بر باززایی گیاه موثر است. بیشترین تعداد گیاهچه باززاشده در محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA به همراه ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر IAA مشاهده شد. همچنین، با افزایش غلظت BA در محیط کشت، از ارتفاع گیاه کاسته شد اما تعداد گیاهچه تولیدی در آن افزایش یافت. در مقایسه دو محیط کشت MS و B_5، مشخص گردید که استفاده از محیط کشت نصف غلظت MS در مرحله پرآوری در این گیاه به دلیل بهبود صفات رشدی مانند ارتفاع گیاهچه و طول ریشه مناسب است. در مرحله سازگاری استفاده از بستر کشت ورمی کولایت + پیت ماس منجر به سازگاری صد درصدی گیاهان و بهبود صفات رشدی در گیاه گردید.

واژه‌های کلیدی: باززایی، بستر کشت، پرآوری، سازگاری، سینگونیوم

مقدمه

افزایش گیاهان زینتی به روش سنتی به دلیل عملکرد پایین، محدودیت فصلی تکثیر تعداد زیادی از گیاهان، احتمال بالای انتقال آلودگی و بیماری توسط پایه‌های مادری استفاده شده و عدم یکنواختی در گیاهان تولید شده، روشی مناسب و کارآمد برای تولید تجاری نمی‌باشد. در مقابل تکثیر گیاهان با استفاده از روش‌های نوین از جمله کشت در شرایط درون شیشه‌ای مسائل و مشکلات ناشی از تکثیر به روش سنتی را نداشته و علاوه بر این نگهداری ژرم‌پلاسم و مبادلات بین المللی را تسهیل می‌کند (۲۹). گیاه سینگونیوم یا پنجه‌غازی با نام علمی *Syngonium podophyllum* L. و نام انگلیسی The goose foot plant و Syngonium بومی آمریکای جنوبی و مرکزی است. این گیاه به خاطر برگ‌های زیبا و چشم‌نواز آن به عنوان گیاه برگ‌زینتی و آپارتمانی مورد توجه است (۱۱). گیاه زینتی سینگونیوم در تصفیه هوا موثر است، از اینرو نگهداری آن در اتاق خواب امکان‌پذیر است (۳۲). تکثیر این گیاه در فصل بهار و به وسیله قلمه انتهایی ساقه انجام می‌گیرد که استفاده از این روش در سطح وسیع و تجاری و مقیاس بالا بسیار زمانبر می‌باشد (۱۲). در نتیجه تکثیر این گیاه به وسیله کشت بافت در مرحله گیاهچه بسیار مورد توجه واقع شده است. در این روش در مدت زمان کوتاه، تعداد گیاه بیشتری تولید شده و علاوه بر آن، امکان تولید ارقام جدید در طی فرآیند تولید نیز وجود دارد. این ارقام ممکن است سودآوری اقتصادی بالایی داشته باشند (۳۳). پژوهش‌های متفاوتی در این زمینه

۱، ۲، ۴ و ۵- استادیار، مربیان و استادیار گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی
۳- دانشجوی مقطع دکتری، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: ma_kh230@yahoo.com)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68818.1021

صورت گرفته است. برای القاء جنین‌زایی سوماتیکی در گیاه سینگونیوم، ریزنمونه دمبرگ در محیط کشت پایه MS[۱] حاوی NAA[۳] و همچنین TDZ و 2,4-D[۴] قرار داده شدند. مشخص گردید که ۸۵ درصد ریزنمونه‌ها جنین‌زا شده و ۸۰ درصد آن‌ها جوانه زدند. در انتها مشخص گردید که هر ریزنمونه قابلیت تولید ۴۰ تا ۱۵۰ گیاهچه را داشت (۳۸). در پژوهشی مشخص گردید که استفاده از ریزنمونه گره گیاه سینگونیوم و کشت آن در محیط کشت MS حاوی ۰/۶۰۴ میلی‌گرم بر لیتر BA[۵] و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر NaH_2PO_4[۶] برای ریزازیادی این گیاه موثر است (۱۵). در گیاه *Syngonium cannifolium* شاخه‌زایی به شدت تحت تاثیر نوع سیتوکینین و غلظت آن قرار گرفت. بیشترین شاخه‌زایی در این گیاه در محیط کشت حاوی ۱/۸۲۶ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۹۹۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA[۷] مشاهده و گزارش شد. همچنین، بهترین محیط کشت بهینه برای شاخه‌زایی در این رقم محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بود (۷). این پژوهش با هدف بهینه‌سازی نوع ترکیب تنظیم کننده رشد گیاهی و نمک‌های محیط کشت در ریزازدیادی گیاه سینگونیوم (*Syngonium podophyllum*) طراحی و اجرا شد تا بتوان گیاهچه‌هایی با کیفیت را به بخش خصوصی عرضه نمود و گامی موثر در بومی‌سازی تولید انبوه و توسعه کشت و پرورش آن برداشت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی در این پژوهش پایه‌های گیاه سینگونیوم بودند که از گلخانه‌ای واقع در ۳۵ کیلومتری شهرستان مشهد خریداری شده و پس از آن به گلخانه تحقیقاتی منتقل گردیدند. ابتدا گیاهان شاداب، عاری از بیماری و در مرحله رشد فعال انتخاب و ریزنمونه‌های گره با طول یک سانتی‌متر از آنها تهیه و برای کشت آماده شدند. جهت ضدعفونی ابتدا ریزنمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری و چند قطره مایع‌شوینده رایج شستشو داده شدند تا گرد و غبار و همچنین مواد زائد دیگر از سطح آن برطرف گردد. پس از این مرحله، از اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه برای از بین بردن آلودگی‌های باکتریایی استفاده شد و پس از انتقال بشر حاوی نمونه‌های گیاهی به زیر هود لامینار و آبکشی با آب مقطر استریل، برای از بین بردن آلودگی‌های قارچی از محلول ۱/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. به دلیل کاهش کشش سطحی و افزایش سطح تماس گیاه و ماده گندزدا، بسته به حجم محلول گندزدا ۲ تا ۳ قطره توویین ۲۰ به محلول ضدعفونی اضافه شد. طی مدت ضدعفونی و به دلیل بهبود تماس گیاه با ماده گندزدا، محلول با دست تکان داده شده است. در پایان مدت ضدعفونی، ریزنمونه‌ها تحت شرایط استریل در زیر هود لامینار ۳ مرتبه در بازه‌های زمانی ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با آب‌مقطر استریل آبکشی شدند. این پژوهش در سه مرحله مختلف طراحی و اجرا گردید.

آزمایش اول: در این آزمایش اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف رشد گیاهی بر باززایی ریزنمونه گره مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا ریزنمونه‌های گره با طول یک سانتی متر در محیط‌کشت نیمه‌جامد MS (موراشیگ و اسکوگ) حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد گیاهی BA و Kin[۸] (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA[۹] قرار داده شدند. از محیط کشت پایه MS حاوی ۳٪ ساکارز و ۸ گرم بر لیتر آگار و pH=۵/۷ استفاده گردید. محیط کشت‌ها در ویال‌هایی به میزان ۱۵ میلی‌لیتر توزیع گردیده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر اُتوکلاو گردیدند. پس از کشت ریزنمونه‌ها به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۳۰۰۰–۲۵۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی، در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در انتهای آزمایش تعداد گیاهچه، ارتفاع گیاهچه باززاشده، وزن خشک گیاهچه باززاشده، درصد ریشه‌زایی، وزن خشک ریشه، طول ریشه، تعداد ریشه و تعداد ریشه ثانویه، ارزیابی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار طراحی و اجرا شد. عامل اول شامل انواع مختلف سیتوکینین (BA و KIN) و عامل دوم غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد گیاهی۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر بود.

در آزمایش دوم اثر انواع مختلف محیط کشت و غلظت‌های مختلف آن بر میزان پرآوری گیاهچه بررسی شد. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. عامل اول شامل نوع محیط کشت (MS و B_5[۱۰]) و عامل دوم غلظت‌های مختلف محیط کشت (نصف غلظت، غلظت کامل) بود. از محیط کشت پایه MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر IAA، ۳ درصد ساکارز و ۸ گرم بر لیتر آگار با pH=۵/۷ استفاده شد. شرایط ضدعفونی محیط و قرارگیری نمونه‌ها همانند آزمایش قبل بود. در این آزمایش، نمونه‌ها هر چهار هفته یکبار واکشت شده و در انتهای آزمایش ویژگی‌هایی مانند: ارتفاع گیاهچه، درصد ریشه‌زایی،

1- Murashige and Skoog medium
2- Thidiazuron
3- 1-Naphthaleneacetic acid
4- 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid
5- benzyl adenine
6- Monosodium phosphate
7- Indole-3-butyric acid
8- Kinetin
9- Indole-3-acetic acid
10- Gamborg Medium

تعداد ریشه تولیدی، طول ریشه تولیدی و تعداد گیاهچه باززاشده اندازه‌گیری و ثبت شد.

در آزمایش سوم سازگاری گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط کشت درون شیشه‌ای بررسی شد. این آزمایش به صورت کاملاً تصادفی و با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۹ بستر کشت از جمله: ورمی‌کولایت، پیت‌ماس، ورمی‌کولایت + پیت‌ماس، پرلیت + پیت‌ماس، پرلیت، کوکوپیت، کوکوپیت + ورمی‌کولایت، کوکوپیت + پرلیت، کوکوپیت و راک‌وول بود. پس از آنکه شاخساره‌ها ریشه‌دار شده و به اندازه کافی رشد کردند تا بتوانند آب و املاح کافی را جذب کنند، به گلدان منتقل شدند. در این مرحله، گیاهچه‌های ریشه‌دار از محیط کشت ریشه‌زایی خارج و پس از شستشوی ریشه‌ها و حذف تمام آگار از سطح ریشه‌ها و احیاناً سطح برگ‌ها، گیاهچه‌ها به گلدان‌های کوچک حاوی بستر کشت‌های مختلف منتقل شدند. از آنجا که گیاهچه‌ها در مراحل اولیه انتقال به گلدان نسبت به آلودگی‌های باکتریایی و قارچی حساس هستند، بسترهای کشت مختلف قبل از کشت کاملاً ضدعفونی (اتوکلاو) شدند. پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان برای حفظ رطوبت و کمک به سازگاری آنها، لیوان‌های پلی اتیلن شفاف (یک بار مصرف) به صورت وارونه بر روی گلدان‌ها قرار داده شد. سپس در اتاقک رشد در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و قرار گرفتند. پس از گذشت چند روز برای سازگاری تدریجی گیاهان به رطوبت محیط هر روز سوراخی با قطر تقریبی ۲ تا ۳ میلی متر در لیوان ایجاد شد. این کار به مدت ۲ هفته ادامه پیدا کرد و به تدریج سوراخ‌ها به طرف قاعده لیوان نزدیک شدند. پس از دو هفته از کشت، لیوان‌ها ابتدا به مدت ۱ ساعت در روز از روی گلدان‌ها برداشته شدند و در روزهای بعد این زمان افزایش پیدا کرد و بالاخره در هفته سوم لیوان‌ها کاملاً از روی گلدان‌ها برداشته شدند. برای جلوگیری از پوسیدگی طوقه، آبیاری و تغذیه گیاهان از زیر گلدان‌ها انجام شد. برای تغذیه گیاهان محلول از MS ½هفته‌ای یکبار استفاده شد. آماده سازی داده‌ها در برنامه Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP-8 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel رسم گردیدند.

نتایج

آزمایش اول: با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده های آزمایش مشخص گردید که انواع مختلف تنظیم کننده‌های رشد و غلظت‌های مختلف آن ها بر صفات مورد بررسی موثر بودند. وزن خشک ریشه، تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد ریشه ثانویه، درصد ریشه‌زایی و تعداد گیاهچه باززاشده تحت تاثیر اثر متقابل تنظیم کننده رشد گیاهی و غلظت آن قرار گرفتند و در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱). یکی از پارامترهای بسیار مهم در شرایط کشت درون شیشه ای، تعداد گیاهچه تولیدی می باشد. در تمامی سطوح کاربرد تنظیم کننده رشد گیاهی مورد استفاده، کاربرد BA در مقایسه با KIN، باعث تولید تعداد گیاهچه بیشتری گردید. همچنین در رابطه با هر دو نوع سیتوکنین مورد استفاده در آزمایش، افزایش غلظت آن‌ها تاثیر مثبتی بر تعداد گیاهچه باززا شده داشت. بیشترین تعداد گیاهچه باززا شده در محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد که در مقایسه با محیط کشت فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی، باعث افزایش ۵ برابری تعداد گیاهچه باززا شده گردید. در محیط کشت حاوی KIN نیز کاربرد غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر آن باعث افزایش ۳/۵ برابری تعداد گیاهچه باززا شده در مقایسه با محیط کشت فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی (شاهد) گردید (جدول ۲). در رابطه با هر دو نوع سیتوکنین مورد استفاده در آزمایش، مشاهده گردید که با افزایش غلظت آن‌ها، تعداد ریشه تولیدی کاهش یافت ولی با این حال حضور BA در محیط کشت در مقایسه با KIN تاثیر منفی شدیدتری بر این پارامتر داشت، به طوری‌که در محیط کشت های حاوی غلظت های بالای این تنظیم کننده رشد گیاهی (۳ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر)، هیچگونه ریشه‌ای تولید نگردید، در حالی که در محیط کشت حاوی بالاترین غلظت KIN، تعداد ریشه تولیدی ۳ برابر محیط کشت حاوی BA بود. با این حال بیشترین تعداد ریشه تولیدی، در محیط کشت فاقد سیتوکینین با میانگین ۵/۷۵ عدد مشاهده شد که نشان دهنده تاثیر منفی حضور تنظیم کننده رشد گیاهی سیتوکنین در محیط کشت بر فرایند ریشه‌زایی گیاه می باشد (جدول ۲).

نتایج اندازه‌گیری طول ریشه تولیدی نشان داد که این صفت نیز تحت تاثیر نوع و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی در محیط کشت قرار گرفت. در محیط کشت بدون سیتوکنین بیشترین طول ریشه تولیدی با میانگین ۱۴/۵۰ سانتی‌متر مشاهده شد و با افزایش غلظت آن در محیط، میزان این پارامتر کاهش یافت. کاربرد BA در محیط کشت در مقایسه با KIN تاثیر منفی شدیدتری بر این پارامتر داشت، به طوری‌که با کاربرد ۴ میلی‌گرم در لیتر BA، هیچ گونه ریشه‌ای تولید نگردید، درحالی که کاربرد غلظت مشابه از KIN باعث تولید ریشه‌هایی با طول ۷ سانتی‌متر گردید (جدول ۲). حضور سیتوکنین در محیط کشت و همچنین افزایش غلظت آن منجر به کاهش تعداد ریشه ثانویه تولیدی گردید. همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد، در هیچ کدام از غلظت‌های مختلف BA در محیط کشت، ریشه ثانویه تولید نگردید، در حالی که در غلظت‌های ۱ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر KIN ریشه‌های ثانویه تولید گردید و تنها کاربرد غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر KIN منجر به عدم تولید ریشه ثانویه گردید. بیشترین تعداد ریشه ثانویه تولیدی با میانگین ۳۷/۵۰ عدد، در محیط کشت فاقد سیتوکنین (شاهد) مشاهده شد که با سایر محیط

کشت‌های مورد استفاده از این لحاظ تفاوت معنی‌داری را ایجاد نمود (جدول ۲). در رابطه با هر دو نوع سیتوکنین مورد استفاده در آزمایش مشخص گردید که افزایش غلظت آن‌ها باعث کاهش وزن خشک ریشه‌های تولیدی گردید که در این رابطه کاربرد BA تاثیر منفی شدیدتری بر این پارامتر داشت، به طوری‌که در گیاهچه‌های کشت‌شده در محیط کشت حاوی ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر BA هیچگونه ریشه‌ای تولید نگردید. بیشترین وزن خشک ریشه تولیدی در محیط کشت فاقد سیتوکنین و با میانگین ۰/۱۱۳ گرم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای مورد بررسی داشت. در رابطه با KIN نیز بین غلظت‌های ۱ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر، تفاوت معنی‌داری از لحاظ وزن خشک ریشه تولیدی مشاهده نگردید (جدول ۲). در رابطه با تمامی غلظت‌های مورد استفاده از KIN، ریشه‌زایی بصورت ۱۰۰ درصد اتفاق افتاد، در حالی‌که با افزایش غلظت BA درصد ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززا شده به شدت کاهش یافت. در رابطه با محیط کشت حاوی تنظیم کننده رشد گیاهی BA، پس از محیط کشت فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی، بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی BA، در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر آن با میانگین ۹۳/۷۵ درصد مشاهده شد و در غلظت‌های ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر آن هیچگونه علائم ریشه‌زایی مشاهده نگردید (جدول ۲). بررسی سیتوکنین‌های مورد استفاده در این آزمایش نشان داد که کاربرد تنظیم کننده رشد گیاهی KIN در مقایسه با تنظیم کننده رشد گیاهی BA باعث افزایش ارتفاع گیاهچه های باززا شده سینگونیوم گردید. از سوی دیگر افزایش غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی سیتوکنین باعث کاهش ارتفاع گیاهچه‌های باززا شده سینگونیوم گردید، به طوری‌که بیشترین ارتفاع گیاهچه باززا شده در محیط کشت فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی سیتوکنین با ارتفاع ۵/۷۵ سانتی‌متر و کمترین میزان آن در محیط کشت‌های حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر (۲/۱۷ سانتی‌متر) و ۴ میلی‌گرم در لیتر (۲/۲۵ سانتی‌متر) تنظیم کننده رشد گیاهی سیتوکنین مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۲). گیاهچه‌های کشت شده در محیط کشت حاوی تنظیم کننده رشد گیاهی BA در مقایسه با تنظیم کننده رشد گیاهی KIN وزن خشک بیشتری را به خود اختصاص داده بودند که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با محیط کشت حاوی تنظیم کننده رشد گیاهی KIN داشتند (شکل ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه سینگونیوم تحت تاثیر نوع و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی سیتوکنین

Table 1- Analysis of variance (mean squares) for measured traits of Syngonium under the influence of cytokinin type and concentration

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد گیاهچه باززاشده Regenerated shoot number	ریشه‌زایی Rooting	تعداد ریشه ثانویه Secondary root number	طول ریشه Root lenght	تعداد ریشه Root number	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک گیاهچه باززاشده Regenerated shoot dry weight	ارتفاع گیاهچه Plantlet height
تنظیم کننده رشد گیاهی PGR	1	12.10**	21390.6**	250.00**	168.10**	27.22**	0.02**	0.016 *	3.90**
غلظت Concentration	4	12.85**	4984.3**	1943.75**	167.35**	27.90**	0.01**	0.001ns	13.99**
تنظیم کننده رشد گیاهی×غلظت C× PGR	4	0.85**	4984.3**	68.75**	21.85**	30.47**	0.001**	0.001ns	0.31ns
خطا Error	30	0.16	15.63	11.66	0.83	0.50	0.0001	0.0009	0.15

ns: عدم معنی‌داری، ** و * به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد.

ns: Non-significant, ** and * significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

آزمایش دوم: با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌های مرتبط به پرآوری، مشخص گردید که انواع مختلف محیط کشت بر ارتفاع گیاهچه، تعداد ریشه، طول ریشه و تعداد گیاهچه تولید شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین ارتفاع گیاهچه، طول ریشه و تعداد گیاهچه تولیدی تحت تاثیر اثر ساده غلظت‌های مختلف محیط کشت قرار گرفت. تنها پارامتر تعداد گیاهچه تحت تاثیر اثر متقابل انواع مختلف محیط کشت و غلظت‌های مختلف آن قرار گرفت و در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). با توجه به بررسی پارامتر ارتفاع گیاهچه، مشخص گردید که ارتفاع گیاه در محیط کشت MS در مقایسه با محیط کشت B_5 بیشتر بود (جدول ۴). همچنین، کاهش غلظت نمک‌های محیط به نصف، ارتفاع گیاهچه رشد کرده در این محیط کشت را نسبت به گیاهچه رشد

کرده در محیط کشت با غلظت کامل به طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۵). با توجه به نتایج بررسی طول ریشه تولیدی در محیط کشت مشخص گردید که طول ریشه تولید شده توسط گیاهچه در محیط کشت MS در مقایسه با محیط کشت B_5، به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۴). همچنین، قرارگیری گیاهچه در محیط کشتی که غلظت نمک‌های موجود در آن به نصف کاهش یافته بود، منجر به تولید ریشه‌های طویل‌تری در مقایسه با محیط کشت با غلظت کامل نمک گردید (جدول ۵). با توجه به نتایج مشخص گردید که کاربرد انواع مختلف محیط کشت بر تعداد ریشه تولید شده توسط گیاهچه موثر بوده است. بدین صورت که بیشترین تعداد ریشه در محیط کشت MS تولید شد. تولید ریشه در این محیط کشت نسبت به محیط کشت B_5، افزایش دو برابری را نشان داد (جدول ۴). با توجه به تجزیه واریانس داده‌های مرتبط با تعداد گیاهچه مشخص گردید که تعداد گیاهچه باززاشده تنها در محیط کشت نصف غلظت B_5 نسبت به سایر تیمارهای آزمایش کمتر بود. تعداد گیاهچه باززاشده در سایر تیمارهای آزمایش افزایش یافت اما از لحاظ آماری تفاوتی بین آن‌ها وجود نداشت (شکل ۳). این نکته قابل ذکر است که در تمامی تیمارهای آزمایش ریشه‌زایی ریزنمونه به صورت ۱۰۰ درصد انجام شد.

جدول ۲- برهمکنش نوع تنظیم کننده رشد گیاهی × غلظت آن بر تعداد گیاهچه باززاشده، ریشه‌زایی، تعداد ریشه ثانویه، طول، تعداد و وزن خشک ریشه گیاه سینگونیوم

Table 2- The interaction effect of cytokinin type × its concentration on regenerated shoot number, rooting, secondary root number, root lenght, root number and root dry weight of Syngonium

سیتوکینین Cytokinin	غلظت Concentration ($mg.l^{-1}$)	تعداد گیاهچه باززاشده Regenerated shoot number	ریشه‌زایی Rooting (%)	تعداد ریشه ثانویه Secondary root number	طول ریشه Root lenght (cm)	تعداد ریشه Root number	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)
BA	0	1.00 g	100. 0 a	37.50 a	14.50 a	5.75 a	0.11 a
	1	3.00 de	93.75 b	0.00 c	8.30 c	4.00bc	0.03c
	2	4.00 bc	75.00 c	0.00 c	4.00 e	2.50 d	0.01d
	3	4.50 ab	0.00 d	0.00 c	0.00 f	0.00 e	0.00d
	4	5.00 a	0.00 d	0.00 c	0.00 f	0.00 e	0.00d
KIN	0	1.00 g	100.0 a	37.50 a	14.50 a	5.75 a	0.11 a
	1	2.00 f	100.0 a	12.50 b	10.00 b	5.00 ab	0.08b
	2	2.50 ef	100.0 a	10.00 b	8.30 c	3.75 c	0.07b
	3	3.00 de	100.0 a	2.50 c	7.50 cd	3.00 cd	0.06 b
	4	3.50 cd	100.0 a	0.00 c	7.00 d	3.00 cd	0.04 c

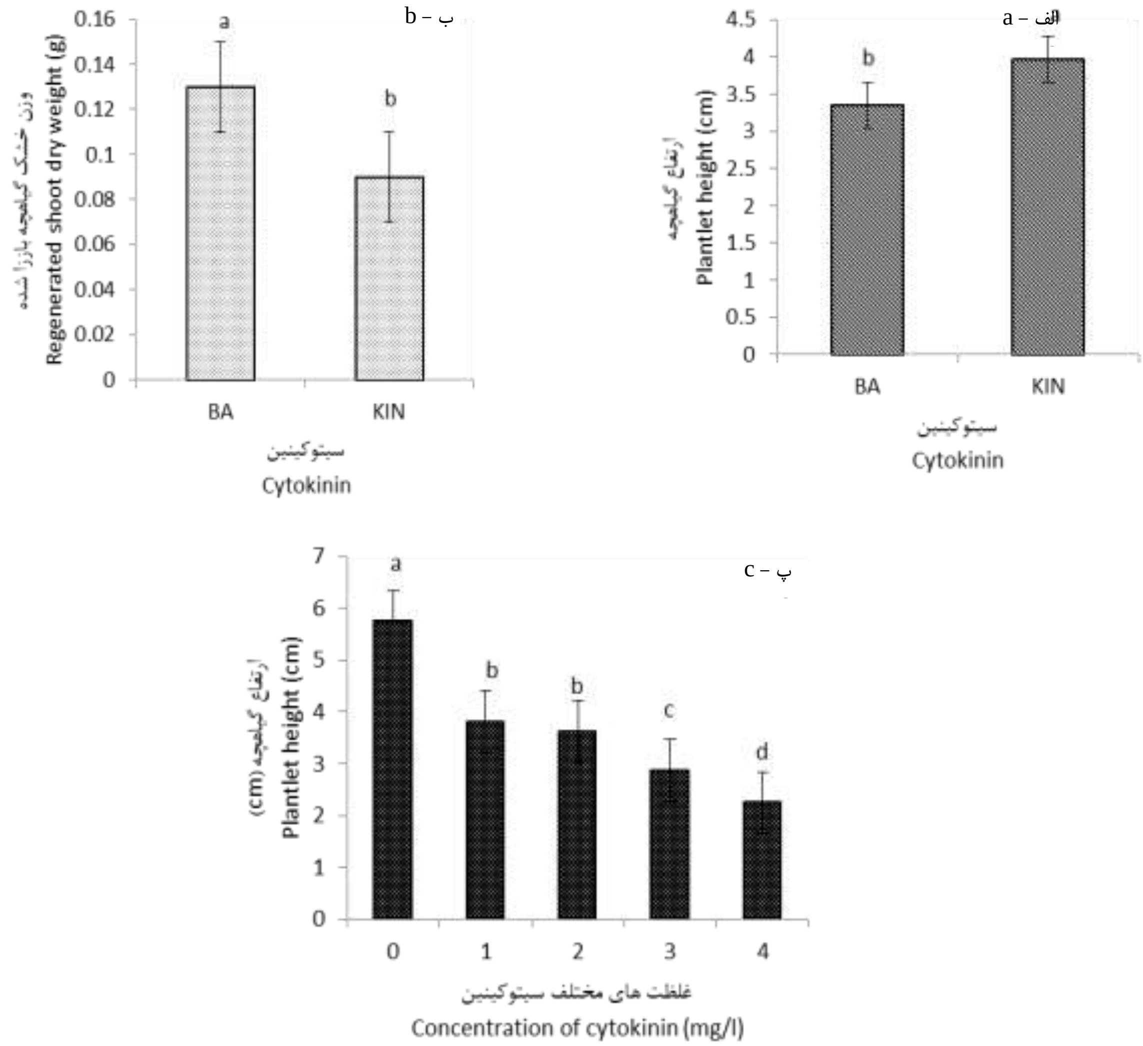
حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Same letter in each column are not significantly different at 5% of probability level based on LSD test.



شکل ۱- گیاهچه‌های سینگونیوم تکثیر شده در محیط کشت دارای BA (راست) و Kin (چپ)

Figure 1- The propagated plantlets of Syngonium in medium containing BA (right) and Kin (left)



شکل ۲- اثر انواع مختلف سیتوکینین بر ارتفاع گیاهچه (الف) و وزن خشک گیاهچه باززاشده (ب) و تاثیر غلظت‌های مختلف سیتوکینین بر ارتفاع گیاهچه (پ)

Figure 2- The effect of different types of cytokinin on a) plantlet height and b) regenerated shoot dry weight, and different concentrations of cytokinin on c) plantlet height. (LSD, *p≤0.05*)

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه سینگونیوم تحت تاثیر نوع و غلظت نمک محیط کشت

Table 3– Analysis of variance (mean squares) for measured traits of Syngonium under the influence of type and concentration of culture medium

منبع تغییرات **S.O.V**	درجه آزادی **df**	تعداد گیاهچه **Shoot number**	طول ریشه **Root lenght**	تعداد ریشه **Root number**	ارتفاع گیاهچه **Plantlet height**
محیط کشت Medium	1	1.25 **	31.25**	24.20**	1.01**
غلظت Concentration	1	1.25**	22.05**	0.80 ^{ns}	2.81**
محیط کشت×غلظت C×M	1	1.25**	0.05 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.11 ^{ns}
Error خطا	16	0.18	0.60	0.42	0.09

ns: عدم معنی‌داری، ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد.

ns: Non-significant, ** and * significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

جدول ۴- تاثیر انواع مختلف محیط کشت بر ارتفاع گیاهچه‌های باززاشده، طول ریشه تولیدی و تعداد ریشه در گیاه سینگونیوم

Table 4- The effect of different media on plantlet height, root number and root lenght of Syngonium

محیط کشت Medium	طول ریشه Root lenght	تعداد ریشه Root number	ارتفاع گیاهچه Plantlet height
MS	7.80 a	4.00 a	3.85 a
B_5	5.30 b	1.80 b	3.40 b

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Same letter in each column are not significantly different at 5% of probability level based on LSD test.

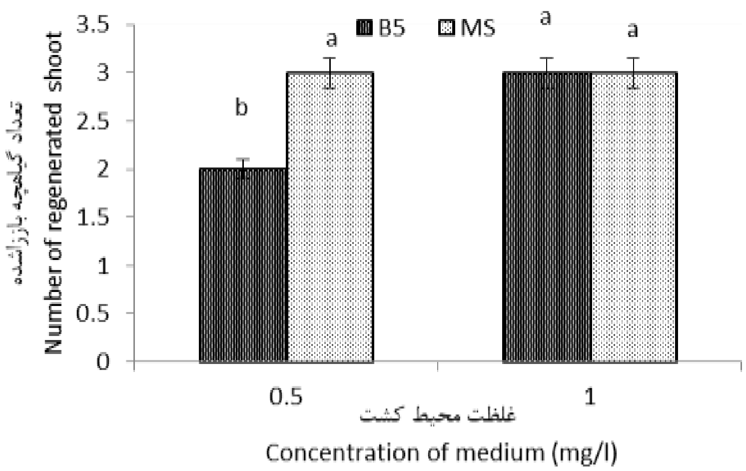
جدول ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف محیط کشت بر ارتفاع گیاهچه باززاشده و طول ریشه تولیدی در گیاه سینگونیوم

Table 5- The effect of different concentration of medium on plantlet height and root lenght of Syngonium

غلظت محیط کشت Concentration of medium	طول ریشه Root height	ارتفاع گیاهچه Plantlet height
0.5	7.60 a	4.00 a
1	5.50 b	3.25 b

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Same letter in each column are not significantly different at 5% of probability levels based on LSD test.



شکل۳- اثر متقابل نوع محیط کشت × غلظت‌های مختلف آن بر تعداد گیاهچه باززاشده گیاه سینگونیوم

Figure 3- The interaction effect of medium type ×concentration on number of regenerated shoot of Syngonium. (LSD, *p≤0.05*)

آزمایش سوم: با توجه به نتایج حاصل از پژوهش مشخص گردید که تاثیر کاربرد بسترهای کشت مختلف بر میزان سازگاری گیاهچه‌های تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). با توجه به نتایج مشخص گردید که ۱۰۰ درصد سازگاری گیاهچه تولید شده در شرایط کشت درون شیشه‌ای در بسترهای کشت ورمی‌کولایت به تنهایی، ورمی کولایت + کوکوپیت، ورمی کولایت + پیت ماس و بستر کشت پرلیت + پیت‌ماس مشاهده و ثبت شد. همچنین بیشتر از ۵۰٪ گیاهچه‌های کشت شده در بستر کشت پیت ماس به تنهایی، نیز سازگار شدند. یاآوری می‌شود که سازگاری گیاهچه سینگونیوم در بستر کشت راک‌وول صفر درصد ثبت شد (شکل ۴). استفاده از بستر کشت ورمی‌کولایت در ترکیب با پیت ماس منجر به تولید بیشترین وزن‌تر گیاهچه، وزن تر و خشک برگ، ارتفاع گیاهچه و تعداد برگ‌های سالم در گیاه شده است. همچنین استفاده از بستر کشت کوکوپیت در ترکیب با ورمی‌کولایت رشد ریشه در گیاهچه را بهبود بخشید و بیشترین وزن تر و خشک گیاهچه را به خود اختصاص داد (جدول ۷). به طور کلی می‌توان بیان کرد که استفاده از بستر کشت ورمی‌کولایت در ترکیب با پیت‌ماس با توجه به سازگاری ۱۰۰ درصد گیاهچه‌های سینگونیوم و بهبود صفات رشدی گیاهچه در مقایسه با سایر بسترهای کشت گزینه مناسبی برای سازگاری گیاهچه‌های سینگونیوم است.

جدول ۶- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه سینگونیوم تحت تاثیر بستر کشت مختلف

Table 6- Analysis of variance (mean squares) for measured traits of Syngonium under the influence of different media

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	نسبت وزن تر گیاهچه در انتها به ابتدا آزمایش Seedling fresh weight ratio at the end to the beginning of the experiment	تعداد برگ قهوه‌ای Brown leaf number	تعداد برگ سبز Green leaf number	ارتفاع Height	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	درصد سازگاری Accumulation
بستر کشت Medium	8	5.51**	21.14**	70.25**	36.47**	0.01 **	0.11**	4025.12**
خطا Error	18	0.001	0.002	0.006	0.007	0.0001	0.0006	123.63

ns: عدم معنی‌داری، ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد.

ns: Non-significant, ** and * significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

جدول ۷- تاثیر بسترهای کشت مختلف بر صفات رشدی گیاهچه‌ها سینگونیوم تولیدی در شرایط کشت درون شیشه‌ای

Table 7- The effect of different media on growth traits of Syngonium seedlings produced under *in vitro* conditions

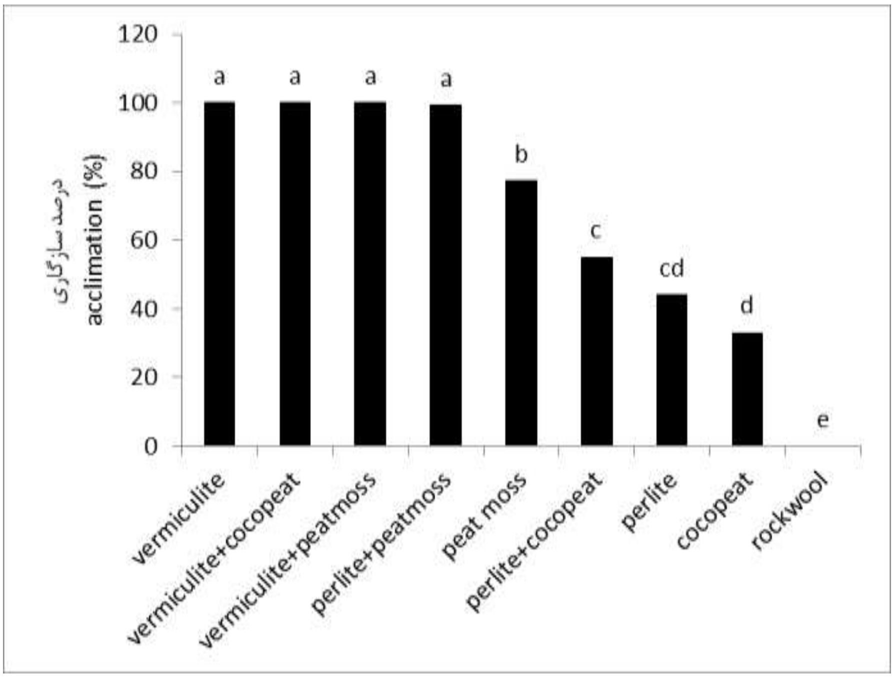
بستر کشت Medium	تعداد برگ قهوه‌ای Brown leaf number	تعداد برگ سالم Green leaf number	ارتفاع Height	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	نسبت وزن تر گیاهچه در انتها به ابتدای آزمایش Seedling fresh weight ratio at the end to the beginning of the experiment
ورمی کولایت + پیت ماس Vermiculite + Peat moss	3.90 g	14.52 a	11.35 a	2.06 b	0.63 a	4.22 b
کوکوپیت + ورمی‌کولایت Coco peat + Vermiculite	6.52 d	11.62 c	10.97 b	2.67 a	0.64 a	3.92 c
پرلیت +پیت‌ماس Perlite + Peat moss	6.69 c	14.31 b	10.52 c	1.79 d	0.52 b	4.42 a
ورمی کولایت Vermiculite	4.93 e	10.00 d	10.33 d	2.04 b	0.46 c	3.37 d
کوکوپیت Coco peat	9.43 a	6.36 f	8.85 f	1.93 c	0.35 d	3.13 e
پیت ماس Peat moss	4.63 f	8.62 e	10.01 e	1.91 c	0.44 c	2.36 f
پرلیت Perlite	7.01 b	5.00 g	10.27 d	1.08 f	0.45 c	2.32 f
کوکوپیت + پرلیت Coco peat + perlite	7.01 b	4.42 h	8.72 f	1.62 e	0.32 d	2.37 f
راک‌وول Rockwool	0.00 h	0.00 i	0.00 g	0.00 g	0.00 e	0.00 g

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Same letter in each column are not significantly different at 5% of probability level based on LSD test.

بحث

فاکتورهای گوناگونی مانند ژنتیک گیاه، مقدار تنظیم کننده‌های رشد گیاهی درون‌زای ریزنمونه، انداز ریزنمونه و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد گیاهی در محیط کشت، بر فرآیند بسیار پیچیده باززایی گیاه در شرایط کشت‌درون شیشه‌ای، موثر می‌باشند (۲۳). استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به خصوص استفاده از سیتوکینین‌ها، از عوامل مهم و ضروری در شرایط کشت درون شیشه‌ای می‌باشد (۳). سیتوکینین های گوناگونی مانند TDZ، BAP و KIN در ترکیب با غلظت‌های خیلی کم از انواع مختلف اکسین‌ها، همچون IAA و NAA با هدف تولید شاخساره در شرایط کشت درون شیشه‌ای در تعداد بیشماری از گیاهان استفاده می‌شود (۵، ۲۷، ۳۱، ۳۷). در این پژوهش، استفاده از BA در محیط کشت توانست تعداد گیاهچه باززا شده را افزایش دهد و پرآوری در گیاه را بهبود بخشد. بنزیل آمینوپورین (BAP)، به عنوان مهمترین و موثرترین سیتوکینین در انگیزش و افزایش شاخه‌زایی در گیاهان معرفی شده است (۱۰).



شکل ۴- تاثیر بسترهای کشت مختلف بر درصد سازگاری گیاهچه‌های کشت بافتی سینگونیوم
Figure 4- The effect of different media on acclimation of Singonium plantlets



شکل ۵- گیاهچه سینگونیوم سازگار شده در بستر کشت پیت ماس + پرلیت (راست) و بستر کشت راک وول (چپ)
Figure 5- Adapted plantlet of Syngonium in peat moss + perlite medium (right) and rock wool medium (left)

پژوهش ها نشان داده‌اند کـه کـاربرد بـرون‌زای بنزیـل آدنـین از طریق تاثیر بر سلول‌های گیاهی و یا به وسیله کنترل تجمع یکسـری ترکیبات سیتوکینینی تاثیر خود را بر رشد گیـاه مـی‌گـذارد. در نتیجـه استفاده از سـیتوکینین‌هـا در محـیط کشـت در شـرایط کشـت درون شیشه‌ای به منظور القا و افزایش تقسیم سلولی ضروری می‌باشد (۳۴). در باززایی شاخساره، ژنوتیپ گیاهی بر مقدار بهینه تنظیم کننده رشـد گیاهی تاثیرگذار است (۲). وجود غلظت مناسب سیتوکینین در محـیط کشت، آغازش سرآغازه شاخه در ریزنمونه را در شـرایط کشـت درون شیشه‌ای القا می‌کند (۲۲). افزون بر این، تسهیل جذب و انتقال مـواد غذایی از دیگر مزایای کاربرد سیتوکینین‌ها در محیط کشت مـی‌باشـد که در پی آن سوخت و ساز گیاهی افزایش یافته و در نهایـت زیسـت توده گیاهچه‌های باززاشده نیز افزایش می‌یابـد (۱۴). کـاهش ارتفـاع شاخساره در پی افزایش تعداد آن، به دلیل توزیع مـواد غـذایی جـذب شده بین شاخساره‌ها می‌باشد (۱۳). استفاده از BA در محـیط کشـت، کاهش اثرات غالبیت انتهایی و تحریک رشـد شـاخه جدیـد را در پـی دارد. علاوه بر این استفاده از این نوع سـیتوکینین در محـیط کشـت،

رشد ریشه را نیز کاهش می‌دهد (۲۴). اثرات مثبت BA در افزایش تعداد شاخه در محیط کشت تایید شده است (۲۵). در گیاه پونه‌سای بی‌کرک (*Nepeta nuda L.*) استفاده از ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA در محیط کشت، منجر به تولید بیشترین وزن تر و تعداد شاخه در مرحله پرآوری گردید. همچنین در این پژوهش بیان شد که مفیدترین تنظیم کننده رشد گیاهی در ریزازدیادی این گیاه تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و NAA در محیط کشت پایه MS می‌باشد (۲۴). در گیاه اطلسی بیشترین باززایی شاخساره، وزن‌تر و خشک شاخساره در محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۱۱۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA به دست آمد (۱۷). علاوه بر این در مرحله پرآوری استفاده از تنظیم کننده رشد گیاهی BAP کارایی بالایی داشت (۱۷). همچنین در گیاه کانولا افزایش غلظت بنزیل آدنین به همراه ایندول بوتریک اسید در محیط کشت، تولید کالوس و شاخه‌زایی را افزایش داد (۴). استفاده از بنزیل آدنین در محیط کشت جوانه‌زنی و شاخه‌زایی در گیاه *Dentate Lavandula* را بهبود بخشید (۹). در پژوهش انجام شده توسط محققین مشخص گردید که بیشترین درصد باززایی در گیاه بابونه آلمانی ژنوتیپ اصفهان در محیط کشت پایه MS حاوی ۰/۹۹۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP در ترکیب با ۰/۳۸۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA مشاهده و ثبت شد (۲۳). همچنین در پژوهشی دیگر کاربرد BA در محیط کشت، موثرترین تنظیم کننده رشد گیاهی در پرآوری دو گونه مرزه بیان شد. در این پژوهش کاربرد ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA بیشترین تاثیر را در افزایش پرآوری در گیاه داشت (۱). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از KIN در محیط کشت در مقایسه با BA، تاثیر کمتری بر باززایی و افزایش تعداد گیاهچه در شرایط کشت درون شیشه‌ای داشت. تاثیر کم KIN در پرآوری و باززایی گیاه نیز توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (۱ و ۲۴). در مقابل کاربرد KIN در محیط کشت توانست ارتفاع گیاهچه را به طور معنی‌داری در مقایسه با BA افزایش دهد. در بررسی اثر تنظیم کننده رشد گیاهی در ریزافزایی گل آهار مشخص گردید که استفاده از KIN در محیط کشت بر افزایش ارتفاع گیاهان موثر بوده است (۲۱). در کشت درون شیشه‌ای گیاه *Vanasushava pedata* استفاده از BAP در مقایسه با KIN و 2iP موثرتر عمل کرد (۱۶). از سوی دیگر، کاربرد محیط کشت بهینه و مناسب در موفقیت ریزازدیادی گیاهان بسیار تاثیر گذار است (۲۶).

در پژوهش حاضر، استفاده از محیط کشت MS در مقایسه با محیط کشت B_5، کارایی بهتری داشت. مقدار مناسب و اجزای مناسب تشکیل‌دهنده آن، توان یونی بهتر و مواد معدنی بیشتر در این محیط کشت در مقایسه با محیط کشت B5 احتمالا از عوامل موثر در برتری آن در کشت درون‌شیشه‌ای می‌باشد(۱۸، ۲۸، ۳۵). گیاهان تولید شده در شرایط کشت درون شیشه‌ای با گیاهان تولید شده در شرایط طبیعی از جنبه‌های مختلفی تفاوت دارند. افزایش رطوبت نسبی (۱۰۰-۹۰ ٪) در شرایط کشت درون شیشه‌ای منجر به تولید گیاهان با لایه کوتیکول نازک در مقایسه با گیاهان رشد یافته در شرایط طبیعی می‌شود. در نتیجه با انتقال گیاه به گلدان و کاهش رطوبت نسبی محیط خارجی، از دست‌دهی آب توسط گیاه افزایش می‌یابد و به دنبال آن پژمردگی در گیاه صورت می‌گیرد (۳۰). در بین مراحل مختلف ریزازدیادی در گیاهان، مرحله سازگاری مهمترین و حساس‌ترین مرحله می‌باشد. در مرحله سازگاری تغییر در شرایط محیطی به صورت تدریجی صورت گرفته و با نزدیک شدن به شرایط گلخانه پایان می‌یابد (۱۹). عوامل مختلفی از جمله: افزایش نور، کاهش رطوبت، نوسانات دمایی و آلودگی محیط در این مرحله از رشد گیاه موثر می‌باشند (۶ و ۲۰). در نتیجه، انتخاب هوشمندانه و صحیح بستر کشت گیاه بر زنده‌مانی و خوگیری گیاه در این شرایط بسیار موثر است (۸). بستر کشت وظیفه حمایت مکانیکی گیاه و افزایش بهبود جذب آب و مواد غذایی توسط ریشه گیاه را دارد (۳۶). بستر کشت مناسب گیاه با کاهش آلودگی، بهبود هوادهی، افزایش نفوذپذیری و اسیدیته مناسب استقرار و رشد اولیه گیاه را تضمین می‌کند (۸). طبیعت متخلخل پرلیت به آن‌ها توان نگه‌داشتن آب را می‌دهد؛ علاوه بر این اندازه کوچک این مواد در بستر کشت منجر به بهبود تهویه و افزایش زهکشی می‌گردد. همچنین ورمی‌کولایت به دلیل وزن سبک، ظرفیت نگه‌داشت بالای آب، بهبود تهویه و زهکشی، ظرفیت بالای تبادل کاتیونی، ظرفیت بالای نگهداری عناصر غذایی، وزن مخصوص ظاهری کم بستر کشت مناسب برای اکثر گیاهان می‌باشد (۱۱). احتمالا تمامی عوامل گفته شده در سازگاری ۱۰۰ درصد گیاه سینگونیوم در بسترهای کشت حاوی این مواد موثر بوده‌اند.

نتیجه‌گیری

دستاوردهای این پژوهش نشان داد که نوع و غلظت سیتوکنین تاثیر معنی‌داری بر اکثر پارامترهای مورد ارزیابی در گیاه سینگونیوم داشت. با افزایش غلظت سیتوکنین در محیط کشت، تعداد گیاهچه باززا شده افزایش یافت اما از سوی دیگر کاهش ارتفاع گیاهچه باززا شده نیز مشاهده شد. کاربرد محیط کشت حاوی BA در مقایسه با KIN تاثیر بارزتری در افزایش تعداد گیاهچه باززا شده داشت و بیشترین تعداد گیاهچه باززا شده در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد. ارزیابی پارامترهای مرتبط با ریشه‌زایی نشان داد که افزایش غلظت سیتوکنین در محیط کشت تاثیر منفی بر پارامترهای ریشه‌زایی داشت که اثر منفی کاربرد BA در محیط کشت در مقایسه با KIN مشهودتر بود؛ به طوری‌که در غلظت‌های ۳ و ۴ میلی‌گرم در

لیتر BA در محیط کشت، هیچگونه نشانه‌های ریشه‌زایی مشاهده نگردید. کاربرد محیط کشت MS در مقایسه با محیط کشت B_5، در افزایش ارتفاع گیاهچه، طول ریشه، تعداد ریشه و تعداد گیاهچه تولید شده موثر بود. همچنین، کاربرد محیط کشت نصف غلظت MS، منجر به افزایش ارتفاع گیاهچه و طول ریشه گردید. بنابراین، در این مرحله از تکثیر این گیاه کاربرد محیط کشت نصف غلظت MS توصیه می‌گردد. همچنین، استفاده از ورمی‌کولایت به تنهایی، ورمی کولایت + کوکوپیت، ورمی کولایت + پیت ماس و بستر کشت پرلیت + پیت‌ماس به عنوان بستر کشت با هدف سازگاری گیاهچه‌های تولیدی در شرایط دورن‌شیشه‌ای نیز توصیه می‌گردد.

منابع

1. Afzalifar M. 2012. Evaluation of different propagation and androgenesis in *Satureja khuzistanica* and *S. rechingeri*. M.Sc. thesis. Medicinal Plants and Drug Research Institute. Shahid Beheshti University, Iran. 46-73.
2. Asghari F., Hasani A., Hosseini B., and Farokhi J. 2013. Effect of different hormonal combination on *in vitro* direct shoot regeneration of basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Horticultural Science 26(4): 434-439. (In Persian)
3. Bhojwani SS., and Razdan MK. 1992. Plant Tissue Culture: Theory and Practice. Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo.
4. Chamandoosti F., and Afshari Azad H. 2012. Somaclonal variation in resistance of canola (*Brassica napus* L.) to *Sclerotinai* stem root. International Journal of Agronomy and Plant Production 3(12): 613-617.
5. Chen TY., Chen JT., and Chang WC. 2002. Multiple shoots formation and plant regeneration from stem nodal explants of *Paphiopedilum* orchids. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 38: 595-597.
6. Daroodi H., Akbarinia M., Safarnezhad A., Hosseini M., and Hajian Shahri M. 2017. Acclimatization of tissue cultured plantlets *Ribes khorasanicum* as an endemic endanger species in different substrates. Journal of Plant Research 30(2): 286-298. (In Persian)
7. Deeir YH., Hahn EJ., and Paek KY. 2006. *In vitro* Flowering of *Spathiphyllum cannifolium*: influence of gibberllic acid, culture type and sucrose concentration. ISHS Acta Horticulturae 725: V International Symposium on *In Vitro* Culture and Horticultural Breeding.
8. Diaz LP., Namur JJ., Bollati SA., and Arce OEA. 2010. Acclimatization of *Phalaenopsis* and Cattleya obtained by micropropagation. Colomb. Biotecnol XII (2): 27-40.
9. Echeverrigaray S., Basso R., and Andrade LB. 2005. Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants. Biol. Plantarum 49(3): 439-42.
10. Farsi M., and Zolali J. 2005. Principles of plant biotechnology. Ferdowsi university of Mashhad press. 508 pp. (In Persian)
11. Ghasemi Ghohsare M., and Kafi M. 2010. Floriculture. Publisher Author. Vol 2. 396 pp. (In Persian)
12. Henny RJ. 1998. Breeding ornamental aroids. p. 121-132. In: D.J. Callaway and M.B. Callaway (eds.), Breeding Ornamental Plants. Timber Press, Portland, OR.
13. Huy N., and Xuan-Mai T. 2014. Investigation of effective *in vitro* propagation media for *Stevia rebaudiana* Bertoni. Asia-Pacific Journal Science Technology 19: 172-180.
14. Kafi M., Zand A., Kamkar B., Sharifi H., and Goldani M. 2006. Plant Physiology (Taiz and Zeiger). University Jihad Publications. Sixth edition. Vol 2. 379 Pp. (In Persian)
15. Kalimuthu K., and Prabakaran R. 2014. *In vitro* Micropropagation of *Syngonium podophyllum*. Int. J. Pure App. Biosci, 2: 88-92
16. Karuppusamy S., Kiranmai C., Aruna V., and Pullaiah T. 2006. Micropropagation of *Vanasushava pedata*-An endangered medicinal plant of South India. BAPTC&B 16(2): 85-94.
17. Khazarloo F., Jabarzadeh Z., and Norozi P. 2017. Effect of Growth Regulators on Proliferation of Leaf Explants of *Petunia hybrida* Double Cascade Series. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 18(3): 259-270. (In Persian)
18. Koohi L., Zare N., Asghari Zakaria R., and Sheykhzade Mosadegh P. 2014. The Effect of Plant Growth Regulators and Different Explants on the Response of Tissue Culture and Cell Suspension Cultures of German Chamomile (*Matricaria Chamomilla* L.). Journal of Crop Ecophysiology (Agriculture Science), 2(30), 203-214. (In Persian)
19. Kurtar ES., Balkaya A., and Okumus NO. 2010. Effects of polymers and growth mediums on in vitro plantlets of Winter Squash (*Cucurbita maxima* Duch. ex Lam.) and Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poir.) in acclimatization. Annals of Biological Research 1(2): 148-154.
20. Lemaire F. 1998. Use of organic materials as substrate in soilless cultures. Horticultural Review 336: 10-17.
21. Mahmoodzadeh H., Abbasi F., and Rohani Sh. 2010. The effect of different concentrations of cytokinins on micropropagation of *Zinnia elegans* Thumbelina. J. Biol. Sci., Islamic Azad Uni. Zanjan 2: 61-65.
22. Mok MC., Martin RC., and Mok DWC. 2000. Cytokinins: biosynthesis, metabolism and perception. *In Vitro* Cell Dev. Biology 36: 102-107.

23. Moradipour A., Hossieni B., and Pirzad A. 2017. Effects of Plant Growth Regulators on Direct Shoot Regeneration from Shoot Apical Explants in Four Genotypes of *Matricaria chamomilla* L. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 30(2): 452-464. (In Persian)
24. Narimani R., moghadam M., and Mojarab S. 2017. Evaluation of the micropropagation of hairless catmint (*Nepeta nuda* L.), an endangered medicinal plant. Journal of Cell & Tissue (JCT) 7(4): 387-397.
25. Nordstrom A., and Eliasson L. 1986. Uptake and translocation of C14-labled benzylaminopurine in apple shoots grown in vitro in relation to shoot development. Physiol. Plant 68(3): 431-435.
26. Nourafcan H., Sefidkon F., Mousavi A., Sharifi M., and Khalighi A. 2014. Effects of different medium on some morpho-physiological index of lemon verbena under *in vitro* conditions. Journal of Herbal Drugs 5(3): 143-150.
27. Pavendan P., and Rajasekaran CS. 2011. Effect of Different Concentrations of Plant Growth Regulators for Micropropagation of *Eugeniasingam pattiana* Beddome Endangered Tree Species. Research Journal of Botany 6: 122-127.
28. Pierik RLM. 1997. *In Vitro* Culture of Higher Plants, Springer Netherlands, 348 pages.
29. Shabanpour K., Bagheri A., S and harifi A. 2011. Study of the capabilities and barriers to the production and supply of flowers, ornamental plants, trees and shrubs in Khorasan Razavi province. Final report of Khorasan Razavi University Jihad research project. 18-19. (In Persian)
30. Sharifi A., Bagheri A., Kiaakhar F., and Kharazi M. 2016. Optimization of conditions for commercial micropropagation of *Gerbera jamesonii* by in vitro culture method. Final report of the research plan of the research deputy of the University Jihad. (code number: 2032). (In Persian)
31. Siddique I., and Anis M. 2008. An improved plant regeneration system and ex vitro acclimatization of *Ocimum basilicum* L. Acta Physiologiae Plantarum, 30, 493-499.
32. Sipos M., and Trif A. 2009. Anatomy of the Vegetative Organs at Syngonium Podophyllum Schott. Analele Universitii din Oradea, Fascicula Biologie. Tom. XVI 2: 129-134.
33. Sosa SM., Balick J., and Arvigo R. 2002. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants, Journalof Ethnopharmacology 81(2): 211–215.
34. Taghizade M., and Solgi M. 2015. Introduction of commercial protocol for in vitro proliferation of *Brassica oleracea* var. acephala. Iranian Journal of Horticaltural Sciences 45(4): 475-484. (In Persian)
35. Taji AM., Dodd WA., and Williams RR. 1997. Plant Tissue Culture Practice, University of New England press, Armidale, Australia.
36. Tortosa J. 1990. Peat, physical and chemical characterization, evaluation cultivator’s container. Vergel Agricultural Review 106: 777-783.
37. Wyosokinsk H., and Piatczak E. 2003. *In vitro* regeneration of *Centaurium eryhraea* from shoot tips and other seedling explants. Acta Soietatis Botanicrum Poloniae 72(4): 283-288.
38. Zhang Q., Chen J., and Henney RJ. 2006. Regeneration of *Syngonium podophyllum* ‘Variegatum’ through direct somatic embryogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 84: 181-188.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.4, Winter 2022, P. 647-660
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۶۰-۶۴۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Optimization Plant Growth Regulation Type and Culture Medium Salts in the Micropropagation of Syngonium (*Syngonium podophyllum* L.)

A. Sharifi[1]- M. Moradian[2]- N. Safari[3]- A. Khadem[4]- M. Kharrazi[5*]

Received: 17-03-2021
Accepted: 31-05-2021

Introduction: Ornamental foliage plants are commonly used for beautifying indoor spaces. Consequently, determining the best method of mass propagation in a short time, is necessary for these plants. For this purpose, an experiment was designed and performed to micropropagate the Singonium ornamental plant.

Materials and Methods: For the first stage, the effect of different plant growth plant growth regulators on the regeneration of nodule explants was evaluated. In this experiment, 1 cm nodal explants were placed in semi-solid MS culture medium containing different concentrations of BA and Kin (0, 1, 2, 3 and 4 mg/l) in combination with 0.2 mg/l IAA. This experiment was performed as a factorial based on a completely randomized design with four replications. The first factor included different types of cytokinin (BA and Kin) and the second factor included different concentrations (0, 1, 2, 3 and 4 mg/l). In the second stage, the effect of different types of culture medium and its different concentrations on plantlet proliferation was investigated. This study was performed as a factorial experiment based on a completely randomized design with five replications. The first factor included the type of culture medium (MS and B_5) and the second factor was the different concentrations of culture medium (0.5 and 1). In the third stage of the experiment, the acclimation of in vitro plantlet was investigated. This experiment was performed as a completely randomized design with three replications. The experimental treatments included different culture media: vermiculite, peat moss, vermiculite + peat moss, perlite + peat moss, perlite, coco peat + vermiculite, coco peat + perlite, coco peat and rock wool.

Results and Discussion: According to the results of the first experiment, it was found that the use of cytokinin in MS culture medium is effective on plant regeneration. The highest number of regenerated plantlet was observed in culture medium containing 4 mg/l BA with 0.2 mg/l IAA. It is noteworthy that with increasing BA concentration in the culture medium, the plant height decreased, but in contrast, the number of produced plantlets increased. Benzyl aminopurine (BAP) has been introduced as the most important and effective cytokinin in inducing and increasing branching in plants. Research has shown that the use of external benzyl adenine affects plant growth by affecting plant cells or by controlling the accumulation of a number of cytokinin compounds. As a result, the use of cytokinins in culture medium under in vitro culture conditions is necessary to induce and increase cell division. According to the second experimental results, produced plantlets in MS culture medium had higher height, number of roots and root length compared to B5 culture medium. Results also demonstrated that the use of ½ MS in the propagation stage of this plant is appropriate due to the improvement of growth traits such as plantlet height and root length. The use of optimal and suitable culture medium is very effective in the success of plant micropropagation. In the present study, the use of MS culture medium showed better performance compared to B5 culture medium. The appropriate amount of components, better ion strength and more minerals in this culture medium compared to B5 culture medium are probably the factors influencing its superiority in in vitro culture. In the acclimation stage, the use of vermiculite + peat moss culture medium led to 100% adaptation of plants and improvement of growth traits in the plant.

Conclusion: The results showed that the type and concentration of cytokinin had a significant effect on the most of the evaluated parameters. With increasing the concentration of cytokinin in the culture medium, the number of regenerated plantlet was increased, but on the other hand, the height of regenerated plantlet also decreased. The use of culture medium containing BA compared to KIN had a more pronounced effect on increasing the number of regenerated plantlets. Application of MS medium compared to B_5 medium was more effective in increasing plantlet height, root length, number of roots and number of produced plantlets. Also, half-

1, 2, 4 and 5- Assistant Professor, Instructors and Assistant Professor, Research Group of Ornamntal Plants Biotechnology, Department of Industrial Biotechnology, Academic Center of Education, Culture and Research (ACECR), Khorasan Razavi Branch
3- Ph.D. Student, Departement of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: ma_kh230@yahoo.com)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68818.1021

strength MS medium, increased plantlet height and root length. Therefore, at this stage of propagation, the application of ½ MS culture medium is recommended. In the acclimation stage, it can be stated that the use of vermiculite substrate in combination with peat moss is a suitable option considering 100% compatibility of syngonium plantlets and improvement of growth traits in comparison with other substrates.

Keywords: Adaptation, Culture medium, Regeneration, Reproduction, Syngonium